

糜子干旱后复水过程中基因表达谱的初步分析*

林凡云^{1,2,3}, 胡银岗^{1,2,3}, 宋国琦^{1,2,3}, 何蓓如^{1,2}

(1 西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100; 2 国家小麦改良中心杨凌分中心, 陕西 杨凌 712100;

3 陕西省农业分子生物学重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 为探索在干旱后复水条件下糜子抗旱种质的基因表达特点, 寻找与其复水后快速恢复生长相关的基因, 利用抑制消减杂交(Suppressive subtraction hybridization, SSH)技术, 以糜子干旱后复水处理叶片的cDNA为tester, 干旱胁迫处理叶片的cDNA为driver, 构建了一个抑制消减杂交文库。在文库中随机选取100个克隆(插入片段≥250 bp)测序, 所获序列去除载体、引物及接头序列后, 利用NCBI的BLAST序列比对分析软件分别对GenBank的dbEST数据库和非冗余蛋白数据库进行序列比对分析。序列同源性分析显示, 文库中序列的同源基因主要以与新陈代谢、能量代谢、转录、蛋白加工、细胞信号转导及细胞组分生物合成相关的基因为主, 其中以新陈代谢及细胞组分生物合成相关的基因数最多, 分别占到与已知蛋白同源的EST的22.4%和10.3%。表明植物在干旱后复水条件下产生一系列的信号传导, 同时启动相应的转录机制, 激活响应基因的表达, 以适应逆境的变化。

[关键词] 抑制消减杂交(SSH); 糜子; 复水; 基因表达谱

[中图分类号] Q 786

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)03-0081-06

Gene expression profile analysis of broom corn millet (*Panicum miliaceum* L.) during rehydration after serious drought by means of SSH

L N Fan-yun^{1,2,3}, HU Yin-gang^{1,2,3}, SONG Guo-qi^{1,2,3}, HE Bei-ru^{1,2}

(1 College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Yangling Branch of China National Wheat Improvement Center, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to investigate the gene expression profile of broom corn millet (*Panicum miliaceum* L.) under the condition of rehydration after serious drought and find out the key genes related to the recovering growth, a subtracted cDNA library of broom corn millet was constructed by means of Suppressive Subtraction Hybridization (SSH). The cDNA of broom corn millet seedling leaves during rehydration after serious drought was used as the tester and cDNA from serious drought was used as the driver. One hundred clones with insertion equal or over 250 bp were randomly picked and sequenced. Then the sequences of vector, primers and adapters were removed from the EST sequences. The EST sequences were subjected to conduct similarity searches with Blast of NCBI to dbEST and non-redundance protein database in NCBI. The Blast result showed that the genes expressed during rehydration of serious drought in broom corn millet mainly involved genes related to metabolism, energy transformation, transcription, protein processing, cellular communication and signal transduction, as well biogenesis of cellular components, the most

* [收稿日期] 2006-02-14

[基金项目] 国家“863”计划项目(2006AA100201); 西北农林科技大学科研专项(2006ZR013)

[作者简介] 林凡云(1975-), 女, 吉林白山人, 博士, 主要从事作物分子遗传育种研究。E-mail: fy_hw@yahoo.com.cn

[通讯作者] 胡银岗(1967-), 男, 陕西韩城人, 副教授, 博士, 主要从事作物杂种优势利用及抗旱分子遗传育种研究。E-mail: huyingang@yahoo.com.cn

genes were those related to metabolism and biogenesis of cellular components, holding 22.4% and 10.3% in the known EST of protein homology respectively. Those genes were supposed to play important roles during the rehydration progress after serious drought and should be further tested. The research will facilitate the isolation and functional analysis of the key genes, so as to be used in the improvement of drought tolerance of other cereal crops.

Key words: SSH (suppressive subtraction hybridization); broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.); rehydration; gene expression profile

植物对水分胁迫及胁迫后复水的响应是一个复杂的过程,高等植物对水分胁迫-复水响应方式是在胁迫解除后进行快速生长,以部分补偿胁迫造成的损失。Wenkert 把水分胁迫后复水引起的生长反应称为补偿生长(Compensatory growth)^[1]。植物干旱复水后能继续生长是植物的一种基本特性,它反应了干旱条件下植物受损结构的复原与活力恢复之间的平衡^[2]。目前,对于植物干旱胁迫后复水的研究主要集中在生理、生化方面^[3-4],从分子机制对复水进行的研究仅限于部分复苏植物及模式植物拟南芥上^[5-6],而在作物上的研究尚未见报道。作物抗旱性的全面衡量应包括作物在干旱情况下的耐受力,同时还要考虑水分胁迫解除后的快速修复与生长,以获得较好的产量。有关作物在干旱胁迫下的分子响应机制已有大量的研究^[7-8],而作为作物适应环境的另一关键部分,复水状态下基因表达的研究同样重要。目前,已经分离到的受复水诱导的基因有 RD29A, 1-pyrroline-5-Carboxylate synthetase (AtP5CS) 及 proline dehydrogenase (AtPDH)^[9-11]等。

糜子是一种 C₄ 途径的禾本科作物,具有耐旱、耐贫瘠、高水分利用效率等特点^[12],可作为其他禾本科作物水分利用效率改良的优异基因资源。抑制消减杂交(SSH)技术作为研究基因差异表达的一种手段,已经被用于研究多种胁迫条件下的基因表达,且被证明是较为有效的^[7-8,13]。本研究以糜子干旱后复水处理叶片的 cDNA 为 tester,干旱胁迫处理叶片的 cDNA 为 driver,构建了一个抑制消减杂交文库,对糜子在干旱后复水条件下的基因表达谱进行了分析,以期找到一些只在复水中特异表达的基因,全面了解糜子水分高效利用的机制,进而为作物抗旱性的改良服务。

1 材料和方法

1.1 材料

以西北农林科技大学搜集保存的糜子抗旱种质

印度 790051 为试材,于温室种植,待长至四叶时开始干旱处理。干旱处理 10 d 后,叶片已全部萎蔫,剪取部分干旱处理叶片,同时留部分干旱处理材料进行复水,复水 6 h 后剪取复水处理叶片,将剪取的叶片于液氮中速冻, -70℃ 冰箱保存待用。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取及痕量 DNA 的去除 采用 Trizol 总 RNA 提取试剂(天为时代,北京)提取糜子叶片的总 RNA。提取的总 RNA 用 Dnase I (TaKaRa, 大连)去除可能存在的痕量 DNA。

1.2.2 消减 cDNA 文库的构建及阳性克隆的筛选 以复水处理叶片的 cDNA 为 tester,干旱胁迫处理叶片的 cDNA 为 driver,构建消减杂交文库,具体过程参照 Clontech 公司的 PCR Select cDNA Subtraction Kit 说明书进行。

消减杂交得到的 cDNA 经二次(巢式)PCR 扩增,所得产物进行纯化浓缩,与 pGEM-T Easy 载体(Promega, USA)连接,化学法转化大肠杆菌感受态细胞 DH5 α ,以 SP6、T7 为引物进行菌落 PCR 鉴定。PCR 反应程序为:94℃ 预变性 2 min; 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 1 min, 共 35 个循环;最后于 72℃ 延伸 5 min,反应后于 4℃ 保温。1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。经鉴定为阳性克隆的菌落加入 500 μ L 含氨苄的 LB 液体培养基, 37℃、225 r/min 培养 5~8 h,加入 500 μ L 30% 甘油,于 -70℃ 保存。

1.2.3 差异片段的序列测定与生物信息学分析 将 PCR 鉴定为阳性的菌落进行过夜培养,采用 H. Q. & Q. 质粒微量抽提试剂盒(优晶,安徽)提取质粒,溶于 50 μ L ddH₂O 中。测序采用 Thermo Sequence Labeled Primer Cycle Sequencing for USB Kit (USB 78500)进行 SP6、T7 双向测序,测序反应及程序依照说明书进行。测序反应结束后利用 LICOR 4200 DNA Sequencer (LICOR 公司,美国)进行测序电泳, e-Seq 软件进行数据收集与序列分析。

将测序得到的 EST 序列去除载体、引物及接头序列后,利用 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) 的 BLAST

序列比对分析软件, 分别对 GenBank 的 dbEST 数据库和非冗余蛋白数据库序列进行比对分析。

2 结果与分析

2.1 文库质量检测

随机挑取过夜培养的克隆进行菌液 PCR 鉴定 (图 1), 通过对扩增结果进行统计表明, 所建文库的

阳性克隆率为 72%。文库的插入片段大小分布为 56~ 590 bp, 主要分布在 250~ 500 bp, 平均插入为 239 bp (去除载体及接头序列), 基本符合 4 碱基酶切的理论值 (平均 256 bp 有一个理论酶切位点)。在文库中随机选取了 100 个克隆 (插入片段 ≥ 250 bp) 进行测序。测序结果中有 5 条为重复序列, 重复率为 5%, 表明所建文库的质量较好, 可用于后续分析。

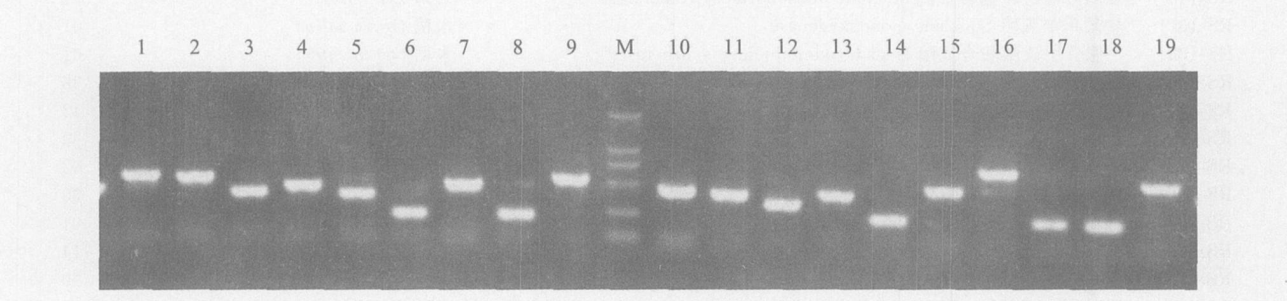


图 1 SSH 文库插入片段的 SP6 和 T7 检测
1~ 19 随机挑取的克隆; M. DL 2000 M marker (从上到下依次为 2 000, 1 000, 750, 500, 250 和 100 bp)
Fig 1 Identification of inserted fragments of the subtracted cDNA library with SP6 and T7 primers
1- 19 Randomly picked clone; M. DL2000 M marker (from above to down: 2 000, 1 000, 750, 500, 250 and 100 bp)

2.2 差异片段的生物信息学分析

根据测序结果去除重复序列, 将获得的非重复 EST 递交 GenBank, GenBank 序列号为 DW 177274- DW 177367, dbEST. Id 为 34781456-34781540。用 NCBI 的 BLAST 序列比对分析软件分别对 GenBank 的 dbEST 数据库和非冗余蛋白数据库序列进行比对。比对结果 (表 1) 表明, 文库中有 58 条序列与已知蛋白同源性较高, 16 条序列没有对应的蛋白质序列而

有同源性较高的 EST, 其余的 21 条序列没有同源性较高的 EST 序列。

将与已知蛋白质同源的序列相关蛋白数据进行网上功能查询, 将查询结果按照最新植物蛋白质功能分类 (<http://mips.gsf.de/proj/funclDB/search-main-frame.html>) 方法进行分类, 结果见表 1。

表 1 不同克隆同源序列基因编码的蛋白及功能分类

Table 1 Gene products of DNA homology and function catalog			
克隆号 Clone No.	同源基因编码蛋白 Gene products of DNA homology	同源基因物种 Category of DNA homology	功能分类* Function catalog*
RS-1	S-腺苷-L-甲硫氨酸合成酶 S-adenosyl-L-methionine synthetase	鸢石斛 <i>Dendrobium crumenatum</i>	01
RS-5	假响应调控因子 Pseudo-response regulator	水稻 <i>Oryza sativa</i>	30
RS-12	质膜质子输出 P 型 ATP 酶 Plasma membrane proton-efflux P-type ATPase	水稻 <i>Oryza sativa</i>	20
RS-17	1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶大亚基 Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit	山罗花 <i>Melampyrum pratense</i>	02
RS-20	S-腺苷甲硫氨酸依赖的甲基转移酶类似蛋白 SAM-dependent methyltransferase-like protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	01
RS-43	6-磷酸果糖激酶 6-phosphofructokinase	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	01
RS-51	小核核蛋白多肽 E Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide E	水稻 <i>Oryza sativa</i>	11
RS-62	胚乳 C-24 固醇转甲基酶 Endosperm C-24 sterol methyltransferase	玉米 <i>Zea mays</i>	01
RS-68	磷脂氢过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶类似蛋白 Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase-like protein	菠菜 <i>Spinacia oleracea</i>	34
RS-89	生长素输出载体蛋白家族类似蛋白 Auxin efflux carrier family protein-like	水稻 <i>Oryza sativa</i>	40
RS-94	二磷酸-果糖-6-磷酸, 1-磷酸转移酶 Diphosphate-fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase	水稻 <i>Oryza sativa</i>	01
RS-99	1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶小亚基 Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	02

续表 1 Continued of Table 1

克隆号 Clone No	同源基因编码蛋白 Gene products of DNA homology	同源基因物种 Category of DNA homology	功能分类* Function catalog
RS-116	假定蛋白 Hypothetical protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	99
RS-120	锌指蛋白 PHD-finger protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	11
RS-122	乙酰乳酸合成酶 A ceto hydroxy acid synthase	玉米 <i>Zea mays</i>	01
RS-139	60 S 核糖体蛋白 L 21 60S ribosomal protein L 21	水稻 <i>Oryza sativa</i>	12
RS-144	DEAD/DEAH 框 RNA 解旋酶 DEAD/DEAH box(RNA) helicase, putative	水稻 <i>Oryza sativa</i>	40
RS-145	腺嘌呤磷酸核糖转移酶 A denine phosphoribosyltransferase	玉米 <i>Zea mays</i>	01
RS-161	鲨烯单加氧酶 Squalene monooxygenase	水稻 <i>Oryza sativa</i>	01
RS-162	S-腺苷甲硫氨酸合成酶 S-adenosylmethionine synthetase	水稻 <i>Oryza sativa</i>	01
RS-166	反转录转座子 Retroelement	水稻 <i>Oryza sativa</i>	38
RS-170	肌球蛋白重链 Myosin heavy chain	水稻 <i>Oryza sativa</i>	42
RS-173	类受体蛋白激酶类似物 Receptor-like protein kinase-like	水稻 <i>Oryza sativa</i>	30
RS-176	光系统 II 蛋白 K Photosystem II protein K; psbK	水稻 <i>Oryza sativa</i>	02
RS-188	环状锌指蛋白 RING zinc finger protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	30
RS-196	细胞质苹果酸脱氢酶 Cytoplasmic malate dehydrogenase	玉米 <i>Zea mays</i>	01
RS-199	DnaJ 结构域 DnaJ domain	水稻 <i>Oryza sativa</i>	14
RS-202	糖磷脂酰肌醇锚定蛋白 GPI-anchored protein	绿豆 <i>Vigna radiate</i>	20
RS-219	PirB 蛋白 PirB protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	36
RS-229	1 型膜蛋白类似物 Type 1 membrane protein-like	水稻 <i>Oryza sativa</i>	42
RS-237	木糖转移酶 I Xylosyltransferase I	水稻 <i>Oryza sativa</i>	01
RS-238	Sec24 类似 COP II 蛋白 Sec24-like COP II protein	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	14
RS-240	S-腺苷甲硫氨酸合成酶 S-adenosylmethionine synthetase	水稻 <i>Oryza sativa</i>	01
RS-243	rRNA 内含子编码的自引导核酸内切酶 rRNA intron-encoded homing endonuclease	水稻 <i>Oryza sativa</i>	11
RS-252	嗜铬粒 A TPase II 类似物 Chromaffin granule ATPase II homolog	水稻 <i>Oryza sativa</i>	02
RS-281	表达蛋白 Expressed protein	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	99
RS-283	2-氧化戊二酸/苹果酸转运蛋白前体类似蛋白 2-oxoglutarate/malate translocator precursor-like protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	01
RS-287	可溶无机焦磷酸酶 Soluble inorganic pyrophosphatase	玉米 <i>Zea mays</i>	02
RS-290	WD 重复蛋白 WD-repeat protein	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	18
RS-294	生长素输出载体蛋白家族类似蛋白 Auxin efflux carrier protein family-like protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	36
RS-295	FAR1 家族 FAR1 family	水稻 <i>Oryza sativa</i>	36
RS-320	β 衔接蛋白类似蛋白 Beta-adaptin-like protein B	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	42
RS-331	磷酸酸性磷酸酶 Putative phosphatidic acid phosphatase beta	水稻 <i>Oryza sativa</i>	34
RS-346	DNA 结合蛋白相关蛋白 DNA-binding protein-related-like	水稻 <i>Oryza sativa</i>	16
RS-353	纤维素合成酶 8 Cellulose synthase-8	水稻 <i>Oryza sativa</i>	42
RS-360	类受体蛋白激酶 Receptor-like protein kinase	水稻 <i>Oryza sativa</i>	30
RS-361	伽玛衔接蛋白 Gamma-adaptin 1	水稻 <i>Oryza sativa</i>	42
RS-365	未知蛋白 Unknown protein	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	99
RS-366	myb 转录因子 Transcription factor (myb)	水稻 <i>Oryza sativa</i>	11
RS-369	纤维素合成酶 5 Cellulose synthase-5	玉米 <i>Zea mays</i>	42
RS-370	假定蛋白 LOC_ Os12g18120 Hypothetical protein LOC_ Os12g18120	水稻 <i>Oryza sativa</i>	99
RS-374	根毛缺陷 3 GTP 结合蛋白类似蛋白 Root hair defective 3 GTP-binding protein-like	水稻 <i>Oryza sativa</i>	14
RS-376	钙依赖蛋白激酶 CPK1 结合蛋白 2 类似蛋白 Calcium-dependent protein kinase CPK1 adapter protein 2-like	水稻 <i>Oryza sativa</i>	30
RS-378	泛素 Ubiquitin	水稻 <i>Oryza sativa</i>	40
RS-380	翻译起始因子 SU II Translation initiation factor SU II	水稻 <i>Oryza sativa</i>	12
RS-384	表达蛋白 Expressed protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	99
RS-386	未知蛋白 Unknown protein	水稻 <i>Oryza sativa</i>	99
RS-392	顺乌头酸酶 Aconitase	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	01

注: 01 新陈代谢; 02 能量; 11 转录; 12 蛋白合成; 14 蛋白加工; 16 结合功能蛋白; 18 蛋白活性调节; 20 细胞运输途径; 30 细胞通信及信号传导; 34 细胞环境互作; 36 环境互作; 38 转座子、毒性及质粒蛋白; 40 细胞命运; 42 细胞组分生物合成; 99 未分类蛋白。

Note: Function catalog: 01 Metabolism; 02 Energy; 11 Transcription; 12 Protein synthesis; 14 Protein fate (folding, modification, destination); 16 Protein with binding function or cofactor requirement; 18 Protein activity regulation; 20 Cellular transport, transport facilitation and transport routes; 30 Cellular communication/signal transduction mechanism; 34 Interaction with the cellular environment; 36 Interaction with the environment (systemic); 38 Transposable elements, viral and plasmid proteins; 40 Cell fate; 42 Biogenesis of cellular components; 99 Unclassified proteins

通过对以上不同功能 EST 进行统计可以看出, 文库中序列的同源基因主要是与新陈代谢、能量代谢、转录、蛋白加工、细胞信号转导及细胞组分生物合成相关的基因, 其中以新陈代谢及细胞组分生物合成相关的基因数量最多, 分别占到与已知蛋白同源的 EST 的 22.4% 和 10.3%。以上结果表明, 当植物在干旱胁迫后复水时会发生一系列的信号转导, 如本文分离到的类受体蛋白激酶 (receptor-like protein kinase)、环状锌指蛋白 (RING zinc finger protein)、假响应调控因子 (pseudo-response regulator) 等均能感应干旱、高盐、低温及生长发育等信号, 并将信号向胞内传递, 引发一系列信号转导过程^[14-15]。在水分胁迫解除后, 植物体能够迅速作出反应, 产生一种补偿机制, 重新开始进行旺盛的生长, 表现为物质及能量代谢的加强, 文库中出现的顺乌头酸酶 (aconitase) 参与三羧酸循环, S-腺苷甲硫氨酸合成酶 (S-adenosylmethionine synthetase) 参与甲硫氨酸的生物合成, 鲨烯单加氧酶 (Squalene monooxygenase) 参与固醇的合成等, 表现为新陈代谢活性及能量合成的增强, 这与前人的研究结果一致^[5]。文库中还分离到了与光合作用相关的光系统 II 蛋白 K (photosystem II protein K) 及 1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶大、小亚基, 这些都表明了旺盛生长的进行。

其他几类功能蛋白, 虽然数量不多但多数与植物对逆境的反应相关, 如纤维素合成酶 (cellulose synthase) 与细胞壁的形成及修复有一定关系; 含 PHD-finger 及 RING-finger 结构域的蛋白与 DNA 的修复、重新联会及转录相关^[16-18]; 反转录转座子 (retroelement) 是真核生物中一类可移动因子, 许多研究都表明, 很多反转录转座子的转录可以被多种生物或非生物的逆境所激活, 如细胞培养、外伤及水杨酸等^[19]。植物在逆境胁迫情况下, 反转录转座子的活化可以调节植物抗逆相关基因的表达, 转座可能与植物发生防卫反应有关, 是植物自我保护的一种反应^[20]。

3 讨论

在以往的研究中, 有关复水响应基因的表达主要集中在复苏植物上, 这是由于复苏植物有高度的耐脱水性, 在持水量仅为 5% 时仍能够生存, 当再次遇水时可以迅速恢复生长, 是较好的研究复水机理的植物^[21]。在作物上对复水进行分子水平的研究还未见报道, 本试验分离得到的复水相关基因与前人

的研究结果有一些是一致的, 如 Youko 等^[5]利用 cDNA microarray 技术研究了模式植物拟南芥的 7 000 个已知基因对复水的响应, 结果表明有 152 个基因受复水的诱导, 表达为诱导上调基因; 功能分析表明, 这些响应基因的功能不仅包括胁迫状态的释放还包括恢复生长机制, 分离得到的基因包括转运蛋白 (transport protein)、转录起始因子 (transcription factor)、细胞壁相关蛋白 (cell-related protein) 及光合相关蛋白, 本研究也得到了类似的结果。Collett 等^[22]在复苏植物 *Xerophyta humilis* 中分离得到的基因中包括 RING zinc finger 的蛋白。Patrick 等^[23]研究表明, 泛素 (ubiquitin) 在植物耐脱水及复水中起到重要作用, 作用方式是调节蛋白的降解, 参与蛋白的修复, 在复水时能通过降解某些蛋白而启动细胞的修复。

本研究所获得的 EST 中很多是受干旱胁迫诱导表达的基因, 如 Zheng 等^[24]研究玉米干旱胁迫下的基因表达分离, 得到了 WD-重复蛋白 (WD-repeat protein)、60S 核糖体蛋白 (60S ribosomal protein-like)、DEAD/DEAH-框螺旋酶 (DEAD/DEAH box helicase)。高婷^[25]获得的小麦苗期干旱诱导表达蛋白有 Myb 转录因子 (Myb transcription factor)、DnaJ 蛋白家族 (DnaJ protein family)、泛素相关蛋白 (ubiquitin-related protein) 等。上述结果表明, 干旱后复水的基因表达与胁迫时的基因表达是一个连续的过程, 很多基因的表达有连续性, 在复水过程中依然起到重要作用。对这些因子在复水过程中的具体作用还需采用 RNA 干扰等方法进行深入研究。

[参考文献]

- [1] Kramer P J. Water relations of plant [M]. New York, U SA: Academic Press, 1983
- [2] Moreira T, Henriques F S, Matos M C. Protoplasmatic drought resistance and water use efficiency [J]. Bull Soc Bot France, 1990, 137: 81-89
- [3] 赵天宏, 沈秀瑛, 杨德光, 等. 水分胁迫及复水对玉米叶片叶绿素含量和光合作用的影响 [J]. 杂粮作物, 2003, 23(1): 33-35
- [4] 李维江. 土壤干旱与复水对花生生理特性的影响 [J]. 山东农业科学, 1997(5): 15-18
- [5] Youko O, Motoaki S, Tokihiko N. Monitoring expression profiles of arabidopsis gene expression during rehydration process after dehydration using ca 7000 full-length cDNA microarray [J]. Plant Journal, 2003, 34: 868-887
- [6] Giovanni B, Francesco S, Dorothea B. Molecular characterization of the rehydration process in the resurrection plant

- Craterostigma plantagineum* [J]. *Plant Physiol*, 1996, 111(4): 1043-1050
- [7] 王 转, 臧庆伟, 郭志爱, 等. 小麦幼苗期水分胁迫所诱导基因表达谱的初步分析[J]. *遗传学报*, 2004, 31(8): 842-849
- [8] 刘桂丰, 侯英杰, 王玉成, 等. 干旱胁迫下刚毛怪柳消减文库的构建及分析[J]. *植物研究*, 2005, 25(1): 69-73
- [9] Yamaguchi, Shinozaki K. Characterization of the expression of a desiccation-responsive rd29 gene of *A. rabidopsis thaliana* and analysis of its promoter in transgenic plant [J]. *Mol Gen Genet*, 1993, 236: 331-340
- [10] Yoshida Y, Kiyosue T, Katagiri T, et al. Correlation between the induction of a gene for D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *A. rabidopsis thaliana* under osmotic stress[J]. *Plant Journal*, 1995, 7: 751-760
- [11] Kiyosue T, Yoshida Y, Yamaguchi K, et al. A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but down regulated by dehydration in *A. rabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1996, 8: 1323-1335
- [12] Theisen A A, Knox E G, Mann F L. Feasibility of introducing food crops better adapted to environmental stress[C]. *Individual Crop Reports* Virginia, U SA: National Science Found, 1978
- [13] 骆 蒙, 孔秀英, 霍纳新, 等. 白粉病菌诱导的小麦抑制差减文库构建与杂交点阵膜制备[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(1): 49-53
- [14] 刘 强, 张 勇, 陈受宜. 干旱、高盐及低温诱导的植物蛋白激酶基因[J]. *科学通报*, 2000, 45(6): 561-566
- [15] Karen A, Kaczorowski, Peter H Q. *A. rabidopsis* Pseudo-response regulator7 is a signaling intermediate in phytochrome-regulated seedling deetiolation and phasing of the circadian clock[J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 2654-2665
- [16] 王少峡, 王振英, 彭永康. DREB 转录因子及其在植物抗逆中的作用[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40(1): 7-13
- [17] 陈 丽. 植物转录因子的结构与功能[J]. *植物生理学通讯*, 1997, 33(6): 401-409
- [18] Sood R, Makalowska I, Galdzicki M, et al. Cloning and characterization of a novel gene, SHPRH, encoding a conserved putative protein with SNF2/helicase and PHD-finger domains from the 6q24 region[J]. *Genomics*, 2003, 82: 153-161
- [19] Grandbastien M A. Activation of plant retrotransposons under stress condition[J]. *Trends Plant Sci*, 1998, 3: 181-187
- [20] Yosuke K, Saorio S, Ryochei S. OARE21, a Ty1-copia retrotransposon in Oat activated by abiotic and biotic stress[J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42: 1345-1354
- [21] Farrant J, Cooper K, Kruger L A, et al. The effect of rate of drying on three different resurrection plants[J]. *Ann Bot*, 1999, 84: 371-379
- [22] Collett H, Shen A, Gardner M, et al. Towards transcript profiling of desiccation tolerance in *Xerophyta humilis*: construction of a normalized 11 k *X. humilis* cDNA set and microarray expression analysis of 424 cDNAs in response to dehydration[J]. *Plant Physiol*, 2004, 122: 39-53
- [23] Patrick J, Mahony O, Melvin J O. The involvement of ubiquitin in vegetative desiccation tolerance[J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 41: 657-667
- [24] Zheng J, Zhao J, Tao Y, et al. Isolation and analysis of water stress induced genes in maize seedlings by subtractive PCR and cDNA macroarray[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 55: 807-823
- [25] 高 婷. 利用抑制差减杂交技术研究小麦幼苗水分胁迫诱导的基因表达谱[D]. 山西太谷: 山西农业大学, 2004